

Хишигмөнх Ч. ¹, Энхсайхан Д. ¹, Дармаа Б. ¹, Амаржаргал Я. ¹, Нямхүү Д. ¹, Цогтсайхан С. ²,
Накаучи М. ³, Нимадава П. ¹

РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГРИППА И ДРУГИХ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА RT-LAMP

¹ National Center for Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia
(ul. Nam-Yan-Ju, Ulaanbaatar 210648, Mongolia)

² National Medical University, School of Pharmacology and Biomedical Medicine
(ul. Ikh Surguuliin 1, Ulaanbaatar 14200, Mongolia)

³ National Institute of Infectious Diseases
(Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan)

Своевременное выявление и идентификация вирусов, вызывающих респираторные и гриппоподобные заболевания (ГПЗ), является одной из главных задач общественного здравоохранения настоящего времени. В 2016–2017 гг. были собраны носоглоточные смывы у 200 больных детей в возрасте от 0 до 5 лет. Выявление возбудителей ГПЗ проводили методом RT-LAMP амплификации. У 43 % больных выявлены вирусы ГПЗ. Из всех выявленных случаев вирусной инфекции, в 49 % был выявлен респираторно-синцитиальный вирус, в 16 % – риновирусы, в 9 % – коронавирусы, в 6 % – вирусы парагриппа и в 2 % – метапневмовирусы человека. Вирусы гриппа А обнаружены в 6 % инфицированных образцов. Полученные результаты доказывают эффективность использования RT-LAMP амплификации в дифференциальной лабораторной диагностике ГПЗ вирусной этиологии.

Ключевые слова: острые респираторные вирусные инфекции, лабораторная диагностика, RT-LAMP

Для цитирования: Хишигмөнх Ч., Энхсайхан Д., Дармаа Б., Амаржаргал Я., Нямхүү Д., Цогтсайхан С., Накаучи М., Нимадава П. Результаты выявления возбудителей гриппа и других острых респираторных инфекций с помощью метода RT-LAMP. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 155-157, DOI 10.29413/ABS.2018-3.4.24.

RESULTS OF IDENTIFICATION OF INFECTIOUS AGENTS OF INFLUENZA AND OTHER ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS WITH THE METHOD OF RT-LAMP

Khishigmunkh Ch. ¹, Enkhsaykhan D. ¹, Darmaa B. ¹, Amarzhargal Y.A. ¹, Nyamkhuu D. ¹,
Tsogtsaykhan S. ², Nakauchi M. ³, Nymadawa P. ¹

¹ National Center for Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia
(ul. Nam-Yan-Ju, Ulaanbaatar 210648, Mongolia)

² National Medical University, School of Pharmacology and Biomedical Medicine
(ul. Ikh Surguuliin 1, Ulaanbaatar 14200, Mongolia)

³ National Institute of Infectious Diseases
(Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan)

Currently, the detection and identification of viruses that cause respiratory and influenza-like illness (ILI) is one of the main tasks of public healthcare. In 2016-2017, nasopharyngeal swabs were collected from 200 sick children with ILI aged 0 to 5 years. Detection of pathogens in ILI patients was carried out by RT-LAMP amplification method. In 43 % of patients ILI viruses were detected. Among all confirmed cases of viral infection, a respiratory-synctial virus was detected in 49 %, rhinoviruses in 16 %, coronaviruses in 9 %, parainfluenza viruses in 6 %, and human metapneumoviruses in 2 % of samples. Influenza A viruses were found in 6 % of infected specimens. The results obtained demonstrate the effectiveness of using RT-LAMP amplification in differential laboratory diagnostics of the ILI of viral etiology.

Key words: acute respiratory viral infections, laboratory diagnostics, RT-LAMP

For citation: Khishigmunkh Ch., Enkhsaykhan D., Darmaa B., Amarzhargal Y.A., Nyamkhuu D., Tsogtsaykhan S., Nakauchi M., Nymadawa P. Results of identification of infectious agents of influenza and other acute respiratory infections with the method of RT-LAMP. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 155-157, DOI 10.29413/ABS.2018-3.4.24.

Во всём мире заболевания, вызванные респираторными вирусами всё чаще становятся причиной смертности и госпитализации среди детей младшего возраста, престарелых, а также людей с пониженным иммунитетом. Главными возбудителями острых респираторных заболеваний являются вирусы гриппа А и В, а также другие вирусы, вызывающие гриппоподобные заболевания (ГПЗ). Клинические выражения этих заболеваний очень похожие. Поэтому

без лабораторных анализов затруднены подходящая профилактика, выявление и лечение вирусных респираторных инфекций. Своевременное выявление новых вариантов вирусов гриппа и ГПЗ является одной из главных задач общественного здравоохранения настоящего времени.

Для выявления возбудителей гриппа и ГПЗ применяют различные варианты полимеразной цепной реакции (ПЦР), которые являются многостадийными

и требуют существенных затрат времени и дорогостоящей аппаратуры. С 2000 г. для выявления возбудителей инфекционных заболеваний стали широко применять метод изотермальной ампликации Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP). Мы исследовали возможность применения метода RT-LAMP, выявляющего в одном образце несколько различных возбудителей гриппа и ГПЗ.

Цель исследования состояла в выявлении некоторых вирусных возбудителей острых респираторных заболеваний с помощью метода RT-LAMP в носоглоточных мазках, взятых у детей младшего возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В Вирусологической лаборатории Национального центра инфекционных заболеваний (НЦИЗ) были проанализированы 200 образцов носоглоточных мазков, взятых у пациентов, проходивших лечение с ноября 2016 г. по март 2017 г. в Национальном центре охраны здоровья матери и ребёнка (НЦОЗМР).

Анализ проводился на оборудовании ABI 7500 Real time PCR FAST System по методике RT-LAMP, разработанной компанией «EIKEN» (Токио, Япония). С помощью методики RT-LAMP можно обнаружить 13 подтипов семи различных видов вирусов, а именно вирусы гриппа А (FluA, H1N1pdm и H3N2) и В (FluB), респираторно-синцитиальный вирус (RSV(A), RSV(B)), вирусы парагриппа (HpiV1, HpiV2, HpiV3), коронавирусы (NL63, OC43), риновирусы (HRVA), метапневмовирус человека (HMPV).

Реакционная смесь: 100 мкл носоглоточного мазка смешивали с 900 мкл Extraction Buffer. Брали 25 мкл смеси и капали на 1-й и 2-й комплекты реактива и помещали в термоблок амплификатора ABI 7500 Real time PCR FAST System. Условия реакции RT-LAMP: этап 1: 62 °C, 1 с.; этап 2: 63 °C, 59 с. (1-й, 2-й этапы по 30 циклов); этап 3: 50 °C, 2 мин (1 цикл). Результат регистрировали через 32 минуты. При интерпретации результатов образец считали положительным, если интенсивность флуоресценции снижалась в течение 21 минуты.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 200 детей 112 (56 %) были мальчики, 88 (44 %) были девочки, из которых 66 (33 %) были в возрасте

от 0 до 6 месяцев, 76 (38 %) – в возрасте от 7 до 23 месяцев и 58 (29 %) – в возрасте от 2 до 5 лет.

С помощью метода RT-LAMP в 89 (43,5 %) из 200 образцов были выявлены вирусы гриппа и ГПЗ. Из них 5 (6 %) принадлежали к вирусам гриппа А (H3N2), 44 (49 %) – к RSV (8 – RSV(A), 36 – RSV(B)), 14 (16 %) – к риновирусам, 5 (6 %) – к вирусам парагриппа (4 – HPIV3, 1 – HPIV1), 8 (9 %) – к коронавирусам (2 – NL63, 6 – OC43) и 2 (2 %) – к метапневмовирусам человека. В 11 (13 %) образцах была обнаружена сочетанная инфекция. Это были дети от 0 до 23 месяцев (10 (90 %)) и один ребёнок в возрасте от 2 до 5 лет. Из всех этих образцов в 8 (77 %) случаях была выявлена сочетанная инфекция с респираторно-синцитиальным вирусом, а именно, в 4 образцах – РСВ с риновирусом, в 2 образцах – РСВ с паравирусом 2 и в 2 образцах – РСВ с коронавирусом 2. Также в 3 (23 %) образцах была выявлена сочетанная инфекция риновируса с паравирусом 2 и с коронавирусом 1.

Период начиная с 46-й недели 2016 года по 3-ю неделю 2017 г. были наивысшими по количеству собранных образцов и количеству выявленных вирусов. Начиная с 4-й недели эти показатели начали падать. По результатам нашего исследования в собранных образцах преобладал респираторно-синцитиальный вирус.

По результатам RT-LAMP анализа из всех выявленных вирусов 49 % были респираторно-синцитиальным вирусом, 16 % риновирусом. С помощью метода RT-LAMP из носоглоточных мазков можно выявить возбудитель без выделения РНК. Исследование показало, что этот метод является недорогим, требует мало времени и идеально подходит к нашим условиям.

Выражается глубокая благодарность врачам Отделения респираторной патологии НЦОЗМР Б. Ариунхишиг, О. Солонго, собравшим и приславшим образцы для анализа, а также организации АМЕР Правительства Японии за помощь в проведении анализов этих образцов.

Статья опубликована в рамках международной юбилейной конференции, посвящённой 20-летию научного сотрудничества между Россией и Монголией «Разные страны – общие проблемы природно-очаговых инфекций».

Сведения об авторах Information about the authors

Хишигмөнх Чимэдрэгзэн – магистр, научный сотрудник, Национальный центр инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения Монголии (210648, Монголия, г. Улаанбаатар, ул. Намянжу; тел. +976-99390199; e-mail: ch.khishigmunkh@gmail.com)

Khishigmunkh Chimedregzen – Master of Science, Research Officer, National Center of Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia (210648, Mongolia, Ulaanbaatar, ul. Nam-Yan-Ju; tel. +976-99-390199; e-mail: ch.khishigmunkh@gmail.com)

Энхсайхан Дашдондог – PhD, сотрудник отдела науки и инновации, Монгольский государственный университет (14200, Монголия, г. Улаанбаатар, ул. Их Сургуулийн, 1; тел. +976-99-181558; e-mail: enkhsaikhan_dashdondog@yahoo.com)

Enkhsaikhan Dashdondog – PhD, Research Officer at the Department of Research and Innovation, National University of Mongolia (14200, Mongolia, Ulaanbaatar, ul. Ikh Surguuliin, 1; tel. +976-99-181558; e-mail: enkhsaikhan_dashdondog@yahoo.com)

Дармаа Бадарч – PhD, заведующая Национальным центром гриппа, Национальный центр инфекционных заболеваний (210648, Монголия, Улаанбаатар, ул. Намянжу; тел. +976-99-754824; e-mail: darmaanmcn@gmail.com)

Darmaa Badarch – PhD, Head of the National Influenza Center, National Center of Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia (210648, Mongolia, Ulaanbaatar, ul. Nam-Yan-Ju; tel. +976-99-754824; e-mail: darmaanmcn@gmail.com)

Амаржаргал Ядамсүрэн – PhD, глава отдела, Министерство здравоохранения Монголии (14210, Монголия, Улаанбаатар, район Сүхбаатар, ул. Олимпийская, 28; тел.: +976-99-030894; e-mail: amarjargaly@yahoo.com)

Amarjargal Yadamsuren – PhD, Head of the Department of Ministry of Health of Mongolia (14210, Mongolia, Ulaanbaatar, Sukhbaatar District, ul. Olympiyskaya, 2; tel. +976-99-030894; e-mail: amarjargaly@yahoo.com)

Нямхүү Дулмаа – PhD, профессор, генеральный директор, Национальный центр инфекционных заболеваний Министерства Здравоохранения Монголии (тел. +976-99-113030; e-mail: dnyamkhuu_hanui@yahoo.com)

Нямкхуу Дулма – PhD, Professor, General Director of National Center of Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia (tel. +976-99-113030; fax +976-11-458699; e-mail: dnyamkhuu_hanui@yahoo.com)

Цогтсайхан Сандаг – PhD, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и иммунологии, Школа фармакологии и биомедицины Монгольского государственного университета медицинских наук (14210, Монголия, г. Улаанбаатар, ул. Их Сургуулийн, 1; тел. +976-91-918246; e-mail: tsogt_san@yahoo.com)

Tsogtsaikhan Sandag – PhD, Professor, Head of the Department of Microbiology and Immunology, School of Pharmacology and Biomedical Medicine, Mongolian National University of Medical Sciences (14200, Mongolia, ul. Ikh Surguuliin 1; tel. +976-91918246; e-mail: tsogt_san@yahoo.com)

Накаучи Мина – PhD, старший научный сотрудник, Центр вирусологических исследований, Национальный институт инфекционных заболеваний (Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku Tokyo 162-8640, Japan)

Nakauchi Mina – PhD, Senior Research Officer, Virus Research Center, National Institute of Infectious Diseases (Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku Tokyo 162-8640, Japan)

Нимадава Пагважав – MD, PhD, доктор медицинских наук, академик, профессор, Заслуженный деятель Здравоохранения Монголии, советник, Национальный центр инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения Монголии (тел. +976-11-99112306, факс +976-11-458699; e-mail: nymadawa@gmail.com)

Nymadawa Pagvajav – MD, PhD, Doctor of Medical Sciences, Academician, Professor, Advisor, National Center for Communicable Diseases, Ministry of Health of Mongolia (tel. +976-11-99112306, fax +976-11-458699; e-mail: nymadawa@gmail.com)